

## CASEIN HYDROLYSATE AND ITS PRODUCTION

Publication number: JP11225686 (A)

Publication date: 1999-08-24

Inventor(s): HAYASAWA HIROKI; MIYAGAWA HIROSHI; OCHI HIROSHI

Applicant(s): MORINAGA MILK INDUSTRY CO LTD

Classification:

- international: A23K1/16; A23J3/10; A23J3/34; A23L1/305; A23L2/66; A61K38/00; C12P21/06; A61K38/00; A23K1/16; A23J3/00; A23L1/305; A23L2/52; A61K38/00; C12P21/06; A61K38/00, (IPC1-7); A61K38/00; A23J3/34; A23J3/10; A23K1/16; A23L1/305; A23L2/66; C12P21/06

- European:

Application number: JP19980044394 19980210

Priority number(s): JP19980044394 19980210

Abstract of JP 11225686 (A)

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a casein hydrolysate widely applicable as a protein raw material of an acidic drink, an acidic nutritive food, etc., various general foods, nutritive foods, feeds and medical agents, etc. SOLUTION: This casein hydrolysate has physicochemical properties such as (a) the decomposition ratio is 8-15%, (b) a non-protein state nitrogen compound is 200-350 mg per 1 g of the casein hydrolysate, (c) the amino acid score is 100, (d) no precipitate is generated when heated at pH4 and 100 deg C for 10 min. and (e) having no taste and no odor. The casein hydrolysate is obtained by adding a protease treated with a hydrophobic resin to a casein treated with a hydrophobic resin, and hydrolyzing it, and filtering the hydrolyzed solution.

---

Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-225686

(43) 公開日 平成11年(1999) 8月24日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>		識別記号	F I	
A 2 3 J	3/34		A 2 3 J	3/34
	3/10			3/10
A 2 3 K	1/16	3 0 3	A 2 3 K	1/16
A 2 3 L	1/305		A 2 3 L	1/305
	2/66		C 1 2 P	21/06
審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 8 頁) 最終頁に続く				
(21) 出願番号 特願平10-44394			(71) 出願人 000006127 森永乳業株式会社 東京都港区芝 5 丁目33番 1 号	
(22) 出願日 平成10年(1998) 2月10日			(72) 発明者 早澤 宏紀 神奈川県座間市東原五丁目 1 番83号 森永乳業株式会社栄養科学研究所内	
			(72) 発明者 宮川 博 神奈川県座間市東原五丁目 1 番83号 森永乳業株式会社栄養科学研究所内	
			(72) 発明者 越智 浩 神奈川県座間市東原五丁目 1 番83号 森永乳業株式会社栄養科学研究所内	
			(74) 代理人 工藤 力	

(54) 【発明の名称】 カゼイン加水分解物及びその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 酸性飲料、酸性栄養食品等、各種一般食品、栄養食品、飼料、及び医薬品等の蛋白質素材として広範に応用可能なカゼイン加水分解物及びその製造方法を提供する。

【解決手段】 a) 分解率が8〜15%であること、  
b) 非蛋白窒素化合物がカゼイン加水分解物 1 g 当り 200〜350mg であること、c) アミノ酸スコアが 100 であること、d) pH 4 において 100℃ 10 分間加熱処理し、沈殿を生じないこと、及び e) 無味無臭であること、の理化学的性質を有するカゼイン加水分解物、及び疎水性樹脂で処理したカゼインに、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素を添加し、加水分解し、加水分解液を濾過することと特徴とするカゼイン加水分解物の製造方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 次のa)～e)、

- a) 分解率が8～15%であること
- b) 非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り200～350mgであること
- c) アミノ酸スコアが100であること
- d) pH4において100℃で10分間加熱処理し、沈殿を生じないこと
- e) 無味無臭であること

の理化学的性質を有するカゼイン加水分解物。

【請求項2】 疎水性樹脂で処理したカゼインを、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素を添加し、加水分解して製造される請求項1に記載のカゼイン加水分解物。

【請求項3】 疎水性樹脂で処理したカゼインに、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素を添加し、加水分解し、加水分解液を濾過することを特徴とするカゼイン加水分解物の製造方法。

【請求項4】 加水分解が、分解率8～15%、及びカゼイン加水分解物1g当り非蛋白態窒素化合物200～350mgの範囲で行われる請求項3に記載のカゼイン加水分解物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、アミノ酸スコアが優れており、酸性域(pH4)において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ無味無臭で不快臭及び不快味がないことから、酸性飲料、酸性栄養食品等、各種一般食品、栄養食品、飼料、及び医薬品等の蛋白質素材として広範に応用可能なカゼイン加水分解物及びその収率において優れたカゼイン加水分解物の製造方法に関するものである。

【0002】詳しくは、本発明は、a) 分解率が8～15%であること、b) 非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り200～350mgであること、c) アミノ酸スコアが100であること、d) pH4において100℃で10分間加熱処理し、沈殿を生じないこと、e) 無味無臭であること、の理化学的性質(以下、a)～e)をまとめて特定の理化学的性質と記載することがある。)を有するカゼイン加水分解物、及び疎水性樹脂で処理したカゼインに、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素を添加し、加水分解し、加水分解液を濾過することを特徴とするカゼイン加水分解物の製造方法に関するものである。

【0003】尚、本明細書において、百分率(%)の表示は、特に断りのない限り重量による値である。

【0004】

【従来の技術】従来、風味が改善されたカゼイン加水分解物としては、加水分解における酵素の組み合わせ、分解条件等を工夫することにより製造される苦味を除いたカゼイン加水分解物(特公昭54-36235号公報)、カゼインに由来する素材臭が低減されたカゼイン

加水分解物(特開平7-303455号公報。以下、従来技術1と記載する。)、及び風味良好なカゼイン加水分解物(特開平8-228692号公報)が開示されている。

【0005】また、風味がほとんど無味無臭であるカゼイン加水分解物として、加水分解後に疎水性樹脂等の吸着樹脂で処理することにより製造される特定の理化学的性質を有するカゼイン加水分解物(特開平9-28306号公報。以下、従来技術2と記載する。)が開示されている。

【0006】しかしながら、これらの従来技術には、次に記載するとの不都合があった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】前記のとおり、従来から風味が改善されたカゼイン加水分解物が知られていたが、苦味を除いたカゼイン加水分解物(特公昭54-36235号公報)及び風味良好なカゼイン加水分解物(特開平8-228692号公報)は分解率が20%以上と高く、味及び臭いの成分が発生しており、樹脂による吸着処理も実施されていないことから、無味無臭ではないという問題点を有していた。

【0008】また、従来技術1は、非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り5～100mgであり、いわゆる分解率が低いことから、味及び臭いの成分の量は少ないもの高分子であるため、酸性域(pH4)において加熱すると沈殿を生じるという問題点を有していた。

【0009】即ち、従来技術2を除き、酸性域(pH4)において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ不快臭及び不快味がない、いわゆるほとんど無味無臭のカゼイン加水分解物については知られておらず、応用範囲が限定されていた。

【0010】尚、従来技術2は、酸性域(pH4)において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ風味がほとんど無味無臭のカゼイン加水分解物ではあるが、20%以上の分解率で分解し、樹脂による吸着処理を実施することから、カゼイン加水分解物1g中に含まれるトリプトファンが4mg以下となることに代表されたとおり、アミノ酸スコアが100未満となり、制限アミノ酸が存在し、蛋白質の利用率が制限され、カゼインに比較して、栄養学的に望ましくないという問題点を有していた。

【0011】本発明者らは、前記従来技術に鑑みて、疎水性樹脂で処理したカゼインに、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素を添加し、加水分解し、加水分解液を濾過することにより、分解率、カゼイン加水分解物1g当りの非蛋白態窒素化合物の含有量、及びアミノ酸スコアが所定の数値であり、酸性域(pH4)において加熱しても沈殿を生ぜず、無味無臭であり、従来になく数々の優れた性質を有するカゼイン加水分解物が製造できることを見出した。本発明を完成した。

【0012】本発明の目的は、特定の理化学的性質を有

し、アミノ酸スコアが優れており、酸性域(pH4)において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ無味無臭で不臭及び不快味がない、従来ない数々の優れた性質を有するカゼイン加水分解物及びその製造方法を提供することである。

#### 【0013】

【課題を解決するための手段】前記課題を解決する本発明の第一の発明は、次のa)〜e)、

- a) 分解率が8〜15%であること
- b) 非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り200〜350mgであること
- c) アミノ酸スコアが100であること
- d) pH4において100℃で10分間加熱処理し、沈殿を生じないこと
- e) 無味無臭であること

の理化学的性質を有するカゼイン加水分解物であり、該カゼイン加水分解物が疎水性樹脂で処理したカゼインを、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素により加水分解して製造されること(以下、態様1と記載する。)を望ましい態様としてもいる。

【0014】前記課題を解決する本発明の第二の発明は、疎水性樹脂で処理したカゼインに、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素を添加し、加水分解し、加水分解液をろ過することを特徴とするカゼイン加水分解物の製造方法であり、加水分解が、分解率8〜15%、及びカゼイン加水分解物1g当り非蛋白態窒素化合物200〜350mgの範囲で行われること(以下、態様2と記載する。)を望ましい態様としてもいる。

#### 【0015】

【発明の実施の形態】次に、本発明について詳述するが、本発明の理解を容易にするために、最初に本発明の第二の発明、即ち、カゼイン加水分解物の製造方法(以下、本発明の方法と略記する。)から説明する。

【0016】本発明の方法に使用されるカゼインは、市販品又は牛乳、脱脂乳等から公知の方法により分離された乳酸カゼイン、塩酸カゼイン等の酸カゼイン、カゼインナトリウム、カゼインカルシウム等のカゼイン塩、若しくはこれらの任意の割合の混合物である。尚、蛋白質含量が70〜90%の未精製カゼインを使用することが、疎水性樹脂処理による味及び臭いの成分を吸着除去の効果が発著であり、かつ精製カゼインに比較して安価に本発明の優れた性質を有するカゼイン加水分解物を製造できるので望ましい。

【0017】この原料カゼインを水又は湯湯に分散し、溶解する。該溶解液の濃度は格別の制限はないが、通常、5〜15%程度の蛋白濃度とすることが効率性及び操作性の点から望ましい。

【0018】次いで、前記カゼイン溶液を80〜85℃で10分間程度加熱殺菌することが、雑菌の汚染による腐敗防止の点から望ましい。

【0019】本発明の方法に使用される疎水性樹脂としては、ダウエックスS-112(ダウケミカル社製)、XAD-7(オルガノ社製)、KS-35(北越炭素社製)等の市販品を例示することができる。

【0020】本発明の方法におけるカゼインの疎水性樹脂での処理は、バッチ式で、前記カゼイン溶液に、その味及び臭いの成分を吸着除去するために十分な量の疎水性樹脂を、その吸着能を考慮して添加し、吸着処理後の疎水性樹脂をろ過等により分離すること、また、カラム式で、疎水性樹脂を充填したカラムに、その吸着能を考慮して、前記カゼイン溶液を、その味及び臭いの成分を吸着除去するために十分な流速で通過し、吸着処理後のカゼイン溶液を回収することにより実施することができる。具体的には、バッチ式で、疎水性樹脂としてKS-35(北越炭素社製)を使用した場合には、カゼイン(蛋白質含量85%)1重量部に対して疎水性樹脂0.3重量部以上を使用することにより、その味及び臭いの成分を吸着除去することができる。本発明の方法に使用される蛋白質分解酵素は、エンドプロテアーゼであり、1種類又は複数種類を組み合わせて使用できる。

【0021】本発明の方法に使用されるエンドプロテアーゼとしては、ビオアラゼ(長瀬化学工業社製)、プロレーザ(天野製薬社製)、プロテアーゼS(天野製薬社製)、サビナーゼ(ノボ・ノルディスク社製)、GODO B. A. P(合同酒精社製)、プロテアーゼN(天野製薬社製)、GODO B. N. P(合同酒精社製)、ニュートラーゼ(ノボ・ノルディスク社製)、アルカラゼ(ノボ・ノルディスク社製)、トリプシン(ノボ・ノルディスク社製)、キモトリプシン(ノボ・ノルディスク社製)、ズブチリシン(ノボ・ノルディスク社製)、ノバイン(天野製薬社製)、プロメライン(天野製薬社製)、ペプシン(天野製薬社製)等の市販品を例示することができる。尚、味及び臭いの成分の多い動物臓器由来、又はバシラス(Bacillus)属等の細菌由来の粗製蛋白質分解酵素(例えば、前記ペプシン(天野製薬社製)、ビオアラゼ(長瀬化学工業社製)、ズブチリシン(ノボ・ノルディスク社製)等)等を例示することができる。これらの酵素は、疎水性樹脂処理による味及び臭いの成分を吸着除去の効果が発著であり、かつ精製蛋白質分解酵素に比較して安価に本発明の優れた性質を有するカゼイン加水分解物を製造できるので望ましい。

【0022】この蛋白質分解酵素を4〜10℃の冷水に分散し、溶解する。該溶解液の濃度は格別の制限はないが、通常、3〜10%程度の酵素濃度とすることが効率性及び操作性の点から望ましい。

【0023】本発明の方法における蛋白質分解酵素の疎水性樹脂での処理は、バッチ式で、前記蛋白質分解酵素溶液に、その味及び臭いの成分を吸着除去するために十分な量の疎水性樹脂を、その吸着能を考慮して添加し、

吸着処理後の疎水性樹脂を濾過等により分離すること、また、カラム式で、疎水性樹脂を充填したカラムに、その吸着能を考慮して、前記蛋白質分解酵素溶液を、その味及び臭いの成分を吸着除去するために十分な流速で通液し、吸着処理後の蛋白質分解酵素溶液を回収することにより実施することができる。具体的には、バッチ式で、疎水性樹脂としてKS-35（北越炭素社製）を使用した場合には、蛋白質分解酵素（蛋白質含量40%）1重量部に対して疎水性樹脂0.2重量部以上を使用することにより、その味及び臭いの成分を吸着除去することができる。

【0024】次いで、前記疎水性樹脂で処理したカゼイン溶液に、前記疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素溶液を添加して加水分解を行う。

【0025】カゼインに対するエンドプロテアーゼの使用量は、基質濃度、酵素力価、反応温度及び反応時間により異なるが、一般的には、カゼイン中の蛋白質1g当り100～1000活性単位の割合で添加することにより加水分解が行われる。

【0026】本発明の方法におけるカゼイン加水分解反応のpHは、格別の制限はなく、所定の分解率が得られる実用的な範囲から選択される。通常、使用酵素の種類にもよるが、pH2～10の範囲から選択される。具体的には、前記カゼイン溶液に酵素を添加する前に、使用酵素の種類によりpH2～10の範囲内で酸又はアルカリ剤の添加により所望のpHに調整することにより実施される。この場合に、酸としては塩酸、クエン酸、リン酸等を例示することができ、また、アルカリ剤としては水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸カリウム等を例示することができる。

【0027】本発明の方法におけるカゼイン加水分解反応の温度は格別の制限はなく、酵素作用の発現する最適温度範囲を含む実用に供せられ得る範囲から選ばれる。通常、30～70℃の範囲から選ばれる。温度を50～60℃の範囲に維持することによりカゼイン加水分解反応中の腐敗を防止することもできる。

【0028】本発明の方法におけるカゼイン加水分解反応の時間は、使用酵素の種類及び組合せ、反応温度、初発pH等の反応条件によって進行状態が異なる、酵素反応の反応継続時間を一定すると製造バッチ毎に異なる理化学的性質を有する分解物が生じる可能性があるため、一概に決定できない。従って、酵素反応をモニターし、反応継続時間を決定する必要がある。酵素反応の停止は、加熱（例えば、85℃で15分間等）して酵素を失活させることにより行う。

【0029】次いで、前記カゼイン加水分解反応終了後の溶液中に存在する加水分解反応時及び／又は酵素加熱失活時に生成した不溶物を、精密濾過、珪藻土等により濾過して除去する。

【0030】得られたカゼイン加水分解物を含有する溶

液は、そのまま使用することもでき、また、必要に応じて、この溶液を公知の方法により濃縮した濃縮液として使用することもでき、更に、この濃縮液を公知の方法により乾燥し、粉末として使用することもできる。

【0031】尚、本発明の方法の態様2において、加水分解は、反応温度、反応時間、酵素添加量等の反応条件を適宜設定し、分解率8～15%、及びカゼイン加水分解物1g当り非蛋白態窒素化合物200～350mgの範囲で行われる。この加水分解により、アミノ酸バランスが優れており、酸性域（pH4）において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ無味無臭で不快臭及び不快味がないという優れた性質を有する本発明のカゼイン加水分解物を製造し得る。

【0032】以上のようにして得られる本発明のカゼイン加水分解物は、後記する実施例からも明らかとなり、特定の理化学的性質を有し、アミノ酸スコアが優れており、酸性域（pH4）において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ無味無臭で不快臭及び不快味がないという優れた性質を有するカゼイン加水分解物である。即ち、本発明の第一の発明であるカゼイン加水分解物は、前記のとおり特定の理化学的性質を有することから、アミノ酸スコアが優れており、酸性域（pH4）において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ無味無臭で不快臭及び不快味がないことから、酸性飲料、酸性栄養食品等、各種一般食品、栄養食品、飼料、及び医薬品等の蛋白質素材として広範に応用可能で有用である。

【0033】尚、本発明の第一の発明であるカゼイン加水分解物は、態様1において記載されているとおり、疎水性樹脂で処理したカゼインを、疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素により加水分解して製造することが、安価で大量にカゼイン加水分解物が製造でき、かつ製造されたカゼイン加水分解物の品質が均質である点から望ましい。しかしながら、前記本発明の方法に限定されず、特定の理化学的性質を有しているならば、その他の方法によっても製造が可能である。

【0034】次に、試験例を示して本発明を詳述するが、本発明においては、次の試験方法を採用した。

【0035】（1）分解率の測定法

ケルダール法により試料の全窒素を、ホルモール滴定法により試料のホルモール態窒素を、それぞれ測定し、これらの値から次式により算出した。

分解率（%）＝（ホルモール態窒素／全窒素）×100

【0036】（2）非蛋白態窒素化合物量の測定法

Rappaport—梅田変法（臨床検査、第9巻、第534～537ページ、1965年）に基づく測定キット（NP-Nテストワコウ；和光純薬社製）を使用し、該測定キットの説明書に従って、試料の非蛋白態窒素量を測定し、得られた値に6.38を乗じて非蛋白態窒素化合物量を算出し、試料濃度から試料1g当たりの非蛋白態窒素化合物量（mg/g）を算出した。

## 【0037】(3) アミノ酸組成の測定方法

トリプトファン、システイン及びメチオニン以外のアミノ酸については、試料を6N塩酸で110℃、24時間加水分解し、トリプトファンについては、水酸化バリウムで110℃、22時間アルカリ分解し、システイン及びメチオニンについては、過硫酸処理後、6N塩酸で110℃、18時間加水分解し、それぞれアミノ酸分析機(日立製作所製:835型)により分析し、各アミノ酸の質量を測定した。

## 【0038】(4) アミノ酸スコアの算定方法

前記アミノ酸組成の測定方法により測定された試料の各アミノ酸の質量、ケルダール法により求めた試料の全窒素量、及び1973年FAO/WHOアミノ酸評点パターン(科学技術庁資源調査会・資源調査所編、「改訂日本食品アミノ酸組成表」、大蔵省印刷局、第211～217ページ、昭和61年10月25日)を使用して、各アミノ酸毎に1973年の評点パターンに対する割合(%)を次式により算出し、そのうちの最低値をもってアミノ酸スコアとした。尚、最低値が100を上回る場合のアミノ酸スコアは通例により100とした。

1973年の評点パターンに対する割合(%) = 試料中の各アミノ酸含量(mg/gN) / 評点パターンの当該アミノ酸量(mg/gN) × 100

## 【0039】(5) 沈殿生成試験方法

試料を、固形分濃度10%で水に溶解し、クエン酸を添加してpHを4に調整し、250mlの透明ガラスビンに充填し、100℃10分間の加熱処理したのち、水冷し、沈殿の生成を肉眼観察し、沈殿有り(+)及び沈殿無し(-)で表した。

## 【0040】(6) 各試料の風味(星味)試験方法

調製した各試料を20歳から40歳までの男女各20人からなるパネルにより、星味の有無及びその強さについて、次の評価方法により官能的に試験した。

## 【0041】各試料を

0点: 星味なし

1点: 星味弱い

2点: 星味やや強い

3点: 星味強い

の4段階に評価し、各試料の評価点の平均値を算出し、

無臭: 0. 5点未満

弱い星味: 0. 5点以上1. 5点未満

やや強い星味: 1. 5点以上2. 5点未満

強い星味: 2. 5点以上3. 0点未満

の基準により判定した。

## 【0042】(7) 各試料の風味(臭い)試験方法調製

した各試料を20歳から40歳までの男女各20人からなるパネルにより、臭いの有無及びその強さについて、次の評価方法により官能的に試験した。各試料を

0点: 臭いなし

1点: 臭い弱い

2点: 臭いやや強い

3点: 臭い強い

の4段階に評価し、各試料の評価点の平均値を算出し、

無臭: 0. 5点未満

弱い臭い: 0. 5点以上1. 5点未満

やや強い臭い: 1. 5点以上2. 5点未満

強い臭い: 2. 5点以上3. 0点未満

の基準により判定した。

## 【0043】試験例1

この試験は、従来技術と比較して本発明のカゼイン加水分解物が優れていることを示すために行った。

## 【0044】(1) 被検試料の調製

次に示す3種類の試料を調製した。

試料1: 実施例1と同一の方法により製造された本発明のカゼイン加水分解物

試料2: 冷却工程後濃縮工程前にマイクロザEMP-313(孔径0.25μm:旭化成社製)を用い、膜分離法(マイクロフィルトレーション)により、不溶物を濾過する工程を付加することを除き、従来技術1の実施例1の方法により製造されたカゼイン加水分解物

試料3: 従来技術2の実施例2の方法により製造されたカゼイン加水分解物

## (2) 試験方法

各試料の分解率、非蛋白態窒素化合物量、アミノ酸スコア、沈殿生成、及び風味(臭い、星味)を、いずれも前記の試験方法により試験した。

## 【0045】(3) 試験結果

この試験の結果は、表1に示すとおりである。表1から明らかとなっており、従来技術1の試料2は、加水分解後に濾過工程を付加したにも拘らず、沈殿生成があり、風味も無味無臭でないことから、これらの点で本発明の試料1が優れており、従来技術2の試料3に比較して本発明の試料1がアミノ酸スコア及び収率において優れていることから、本発明が総合的に優れていることが判明した。

【0046】更に、本発明と従来技術2の対比から、沈殿生成なく、無味無臭で、かつ優れたアミノ酸スコアを有するカゼイン加水分解物を製造するためには、樹脂による吸着処理を加水分解前に実施することが必要であることが判明した。

【0047】尚、カゼインの種類、蛋白質分解酵素の種類、又は疎水性樹脂の種類を適宜変更して試験したが、ほぼ同様の結果が得られた。

## 【0048】

【表1】

試料番号	分解率 (%)	非蛋白態窒素化合物量 (mg/g)	アミノ酸スコア	沈殿生成	風 味	
					呈 味	臭 い
1	13	290	100	—	無 味	無 臭
2	5	18	100	+	弱い呈味	弱い臭い
3	26	680	40	—	無 味	無 臭

## 【0049】試験例2

この試験は、アミノ酸スコア、沈殿生成、及び風味（臭い、呈味）を指標として、カゼイン加水分解物の分解率及びカゼイン加水分解物1g当りの非蛋白態窒素化合物量の範囲を調べるために行った。

## 【0050】（1）被検試料の調製

酵素反応の停止時期を変更して、表2に示すとおり、カゼイン加水分解物の分解率及びカゼイン加水分解物1g当りの非蛋白態窒素化合物量を変更したことを除き、実施例1とはほぼ同一の方法により、5種類のカゼイン加水分解物試料を調製した。

## 【0051】（2）試験方法

各試料の分解率、非蛋白態窒素化合物量、アミノ酸スコア、沈殿生成、及び風味（臭い、呈味）を、いずれも前

記の試験方法により試験した。

## 【0052】（3）試験結果

この試験の結果は、表2に示すとおりである。表2から明らかとなり、アミノ酸スコア、沈殿生成、及び風味（臭い、呈味）において優れたカゼイン加水分解物を製造するためには、カゼイン加水分解物の分解率及びカゼイン加水分解物1g当りの非蛋白態窒素化合物量の範囲がそれぞれ8～15%及び200～350mg/g範囲でなければならないことが判明した。

【0053】尚、カゼインの種類、蛋白質分解酵素の種類、又は疎水性樹脂の種類を適宜変更して試験したが、ほぼ同様の結果が得られた。

## 【0054】

【表2】

分解率 (%)	非蛋白態窒素化合物量 (mg/g)	アミノ酸スコア	沈殿生成	風 味	
				呈 味	臭 い
7	190	100	+	無 味	無 臭
8	200	100	—	無 味	無 臭
13	290	100	—	無 味	無 臭
15	350	100	—	無 味	無 臭
16	360	100	—	弱い呈味	弱い臭い

## 【0055】試験例3

この試験は、アミノ酸スコア、沈殿生成、及び風味（臭い、呈味）を指標として、カゼイン加水分解物の製造方法の条件を調べるために行った。

## 【0056】（1）被検試料の調製

表3に示すとおり、カゼイン又は蛋白質分解酵素に対する疎水性樹脂処理の有無が異なることを除き、実施例1と同一の方法により、実施例1と同一の分解率及び非蛋白態窒素化合物量の4種類のカゼイン加水分解物試料を調製した。

## 【0057】（2）試験方法

各試料のアミノ酸スコア、沈殿生成、及び風味（臭い、呈味）を、いずれも前記の試験方法により試験した。

## 【0058】（3）試験結果

この試験の結果は、表3に示すとおりである。表3から明らかとなり、アミノ酸スコア、沈殿生成、及び風味（臭い、呈味）において優れたカゼイン加水分解物を製造するためには、カゼイン及び蛋白質分解酵素の双方に対する疎水性樹脂による吸着処理を加水分解前に実施することが必要であることが判明した。

【0059】尚、カゼインの種類、蛋白質分解酵素の種類、又は疎水性樹脂の種類を適宜変更して試験したが、ほぼ同様の結果が得られた。

## 【0060】

【表3】

疎水性樹脂処理の有無		7:1/数スコア	沈殿生成	風 味	
対カゼイン	対蛋白質分解酵素			呈 味	臭 い
無	無	100	—	強い呈味	強い臭い
有	無	100	—	弱い呈味	やや強い臭い
無	有	100	—	強い呈味	強い臭い
有	有	100	—	無 味	無 臭

【0061】次に実施例を示して本発明を更に詳記するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

#### 【0062】

##### 【実施例】実施例1

市販のカゼインナトリウム（ユニーレ・フランス社製。蛋白質含量85%）1kgに水9kgを加え、よく攪拌混合し、カゼインナトリウムを完全に溶解し、濃度約10%のカゼイン溶液を調製した。該カゼイン溶液を80℃で10分間加熱殺菌したのち、50℃に温度調整し、疎水性樹脂[KS-35（北越炭素社製）]に対して、該溶液をSV（空間速度）=2h<sup>-1</sup>の条件で吸着処理し、濃度約10%の疎水性樹脂で処理したカゼイン溶液を得た。

【0063】これとは別に、プロメリン（天野製薬社製）1,020,000 活性単位（蛋白質1g当り1,200活性単位）、及びニュートラゼ（ノボ・ノルディスク社製）850,000 活性単位（蛋白質1g当り1,000活性単位）からなる蛋白質分解酵素混合物4gを10℃の冷水100mlに分散して溶解し、酵素蛋白質の濃度として約10%の蛋白質分解酵素溶液を調製した。該蛋白質分解酵素溶液を疎水性樹脂[KS-35（北越炭素社製）]に対して、該溶液をSV（空間速度）=2h<sup>-1</sup>、温度10℃の条件で吸着処理し、蛋白質濃度約10%の疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素溶液を得た。

【0064】次いで、得られた疎水性樹脂で処理したカゼイン溶液（pH6.5）を50℃に温度調整し、pHを調整せずに前記疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素溶液を添加し、加水分解反応を開始し、酵素反応を分解率及びカゼイン加水分解物1g当りの非蛋白態窒素化合物量により経時的にモニターし、分解率が13%及び非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り290mgに達した時点で、80℃で6分間加熱して酵素を失活させ、酵素反応を停止し、10℃に冷却した。

【0065】この加水分解液をマイクロローザEMP-313（旭化成社製。孔径0.25μm）を用い、膜分離法（マイクロフィルトレーション）により不溶物をろ過し、得られたカゼイン加水分解物を含有する溶液を常法により濃縮し、噴霧乾燥し、粉末のカゼイン加水分解物約0.74kgを得た。

【0066】得られたカゼイン加水分解物を前記試験方

法により試験した結果、該カゼイン加水分解物は、分解率が13%、非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り290mg、及びアミノ酸スコアが100であった。また、前記試験方法により試験した該カゼイン加水分解物は、pH4において100℃で10分間加熱処理した場合に沈殿を生ぜず、風味（臭い、呈味）は、ほとんど無味無臭であった。

#### 【0067】実施例2

市販の乳酸カゼイン（蛋白質含量84%。ニュージーランドデリーボード製）1kgに水9kgを加え、よく攪拌混合し、カゼインナトリウムを完全に溶解し、濃度約10%のカゼイン溶液を調製した。該カゼイン溶液を80℃で10分間加熱殺菌したのち、50℃に温度調整し、疎水性樹脂[ダウエックス-112（ダウケミカル社製）]に対して、該溶液をSV（空間速度）=1h<sup>-1</sup>の条件で吸着処理し、濃度約10%の疎水性樹脂で処理したカゼイン溶液を得た。

【0068】これとは別に、トリプシン（ノボ・ノルディスク社製）2,100,000 活性単位（蛋白質1g当り2,500活性単位）、及びビオアラゼ（長瀬生化学工業社製）1,344,000 活性単位（蛋白質1g当り1,600活性単位）からなる蛋白質分解酵素混合物15gを10℃の冷水300mlに分散して溶解し、酵素蛋白質の濃度として約10%の蛋白質分解酵素溶液を調製した。該蛋白質分解酵素溶液を疎水性樹脂[ダウエックス-112（ダウケミカル社製）]に対して、該溶液をSV（空間速度）=1h<sup>-1</sup>、温度10℃の条件で吸着処理し、蛋白質濃度約10%の疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素溶液を得た。

【0069】次いで、得られた疎水性樹脂で処理したカゼイン溶液（pH6.5）を45℃に温度調整し、pHを調整せずに前記疎水性樹脂で処理した蛋白質分解酵素溶液を添加し、加水分解反応を開始し、酵素反応を分解率及びカゼイン加水分解物1g当りの非蛋白態窒素化合物量により経時的にモニターし、分解率が12%及び非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り260mgに達した時点で、80℃で6分間加熱して酵素を失活させ、酵素反応を停止し、10℃に冷却した。

【0070】この加水分解液をセライトスーパースタンダードセル（セライト製）を用い、珪藻土ろ過法によ



り不溶物を濾過し、得られたカゼイン加水分解物を含有する溶液を常法により濃縮し、噴霧乾燥し、粉末のカゼイン加水分解物約0.68kgを得た。

【0071】得られたカゼイン加水分解物を前記試験方法により試験した結果、該カゼイン加水分解物は、分解率が12%、非蛋白態窒素化合物がカゼイン加水分解物1g当り260mg、及びアミノ酸スコアが100であった。また、前記試験方法により試験した該カゼイン加水分解物は、pH4において100℃で10分間加熱処理した場合に沈殿を生ぜず、風味（臭い、呈味）は、ほとんど無味無臭であった。

【0072】

【発明の効果】以上詳記したとおり、本発明は、カゼイン加水分解物及びその製造方法に関するものであり、本発明により奏せられる効果は次のとおりである。

1) アミノ酸スコアが優れており、酸性域(pH4)において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ無味無臭で不快臭及び不快味がないカゼイン加水分解物を製造することができる。

2) アミノ酸スコアが優れており、酸性域(pH4)において加熱しても沈殿を生ぜず、かつ無味無臭で不快臭及び不快味がないことから、酸性飲料等の蛋白質素材として広範に応用可能となる。

フロントページの続き

(51)Int. Cl.<sup>6</sup>

識別記号

F I

C 1 2 P 21/00

A 2 3 L 2/00

J

// A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 37/02

---

**DETAILED DESCRIPTION**

---

(19)**Publication country**Japan Patent Office (JP)  
(12)**Kind of official gazette**Publication of patent applications (A)  
(11)**Publication No.**JP,11-225686,A  
(43)**Date of Publication**August 24, Heisei 11 (1999)  
(54)**Title of the Invention**CASEIN HYDROLYSATE AND ITS PRODUCTION  
(51)**International Patent Classification (6th Edition)**

A23J 3/34

// A23J 3/10

C12P 21/06

**Request for Examination**Unrequested

**The number of claims**4

**Mode of Application**OL

**Number of Pages**7

(21)**Application number**Japanese Patent Application No. 10-044394

(22)**Filing date**February 10, Heisei 10 (1998)

(71)**Applicant**

**Name**MORINAGA MILK IND CO LTD

(72)**Inventor(s)**

**Name**Hayasawa Hiroki

(72)**Inventor(s)**

**Name**Miyagawa Hiroshi

(72)**Inventor(s)**

**Name**Ochi Hiroshi

---

**(57) Abstract**

**Technical Problem**To provide a casein hydrolysate widely applicable as a protein raw material of an acidic drink, an acidic nutritive food, etc., various general foods, nutritive foods, feeds and medical agents, etc.

**Solution**This casein hydrolysate has physicochemical properties such as (a) the decomposition ratio is 8-15%, (b) a non-protein state nitrogen compound is 200-350 mg per 1 g of the casein hydrolysate, (c) the amino acid score is 100, (d) no precipitate is generated when heated at pH4 and 100°C for 10 min, and (e) having

no taste and no odor. The casein hydrolysate is obtained by adding a protease treated with a hydrophobic resin to a casein treated with a hydrophobic resin, and hydrolyzing it, and filtering the hydrolyzed solution.

---

#### **Claim(s)**

**Claim 1** In thing dpH4 which are 100, a being [ a being / following a-e, and a cracking severity / 8 to 15% / b nonprotein nitrogenous compound / 200-350 mg per g of casein hydrolysate ] c amino acid score heat-treats for 10 minutes at 100 \*\*, Casein hydrolysate which has a physicochemical property of being forming-precipitate e tasteless no odor.

**Claim 2** The casein hydrolysate according to claim 1 manufactured by a proteolytic enzyme which processed casein processed with hydrophobic resin with hydrophobic resin hydrolyzing.

**Claim 3** A manufacturing method of casein hydrolysate adding a proteolytic enzyme processed with hydrophobic resin, hydrolyzing into casein processed with hydrophobic resin, and filtering hydrolyzing liquid to it.

**Claim 4** A manufacturing method of the casein hydrolysate according to claim 3 with which hydrolysis is performed in 8 to 15% of cracking severity, and the range of 200-350 mg of nonprotein nitrogenous compounds per g of casein hydrolysate.

---

#### **Detailed Description of the Invention**

##### **0001**

**Field of the Invention** This invention is excellent in the amino acid score.

From precipitate not being formed even if it heats in an acidic range (pH 4), and there not being an unpleasant smell and an unpleasant taste at tasteless no odor. It is related with the manufacturing method of the casein hydrolysate which was excellent in extensively applicable casein hydrolysate and its yield as protein raw materials, such as various general foodstuffs, such as an acidic beverage and acid protective foods, protective foods, feed, and drugs.

**0002** b nonprotein nitrogenous compound is [ that a cracking severity of this invention is 8 to 15% in detail, ] 200-350 mg per g of casein hydrolysate, c) Heat-treat for 10 minutes at 100 \*\* in dpH4, and don't form [ that an amino acid score is 100, ] precipitate, e) The physicochemical property (following, a) of being [ it / tasteless no odor. ] \*\* - e may be collectively indicated to be specific physicochemical properties. Casein hydrolysate which it has, And the proteolytic enzyme processed with hydrophobic resin is added to the casein processed with hydrophobic resin, and it hydrolyzes into it, and is related with the manufacturing method of the casein hydrolysate filtering hydrolyzing liquid.

**0003** In this specification, the display of percentage (%) is a value by weight, as long as there is no notice especially.

##### **0004**

**Description of the Prior Art** As casein hydrolysate by which flavor has been improved, conventionally, Casein hydrolysate (JP,54-36235,B) except the bitter taste manufactured by devising the combination of the enzyme in hydrolysis, a decomposing condition, etc., casein hydrolysate by which the raw material smell originating in casein was reduced (JP,7-303455,A.) Hereafter, it is indicated as the conventional technology 1. And casein hydrolysate (JP,8-228692,A) with good flavor is indicated.

**0005** Casein hydrolysate which has a specific physicochemical property manufactured

when flavor processes with adsorption resin, such as hydrophobic resin, after hydrolysis as casein hydrolysate which is almost tasteless no odor (JP,9-28306,A.) Hereafter, it is indicated as the conventional technology 2. It is indicated.

**0006** However, there was inconvenience as indicated below in such conventional technologies.

**0007**

**Problem(s) to be Solved by the Invention** Although the casein hydrolysate by which flavor has been improved from the former was known as aforementioned, Casein hydrolysate (JP,54-36235,B) except bitter taste and casein hydrolysate (JP,8-228692,A) with good flavor have cracking severity as high as not less than 20%, Since the taste and a stinking thing ingredient had occurred and adsorption treatment by resin was not carried out, either, it had the problem that it was not tasteless no odor.

**0008** The nonprotein nitrogenous compound was 5-100 mg per g of casein hydrolysate, and since what is called cracking severity was low, and the quantity of the taste and a stinking thing ingredient was polymers of few things, when the conventional technology 1 was heated in the acidic range (pH 4), it had the problem of forming a precipitate.

**0009** That is, it was not known about what is called almost tasteless odorless casein hydrolysate that does not form precipitate except for the conventional technology 2 even if it heats in an acidic range (pH 4), and does not have an unpleasant smell and an unpleasant taste, but the application range was limited.

[0010] Even if it heats the conventional technology 2 in an acidic range (pH 4), do not form precipitate and flavor is almost tasteless odorless casein hydrolysate, but. From decomposing by the cracking severity of not less than 20%, and carrying out adsorption treatment by resin. The amino acid score became less than 100, limiting amino acid existed, the proteinic capacity factor was restricted, and it had nutritionally the problem that it was not desirable, as compared with casein as represented by that the tryptophan contained in the casein hydrolysate 1g is set to 4 mg or less.

**0011** By this invention persons' adding the proteolytic enzyme processed with hydrophobic resin to the casein processed with hydrophobic resin, hydrolyzing them into it in view of said conventional technology, and filtering hydrolyzing liquid, Cracking severity, the content of the nonprotein nitrogenous compound per 1g of casein hydrolysate, And the amino acid score was a predetermined numerical value, even if heated in the acidic range (pH 4), precipitate was not formed, but it is tasteless no odor, and found out that the casein hydrolysate which has the character which was excellent in many which are not in the former could be manufactured, and this invention was completed.

**0012** The purpose of this invention is to provide casein hydrolysate which has the character which was excellent in many which have a specific physicochemical property and the amino acid score is excellent in, do not form precipitate even if it heats in an acidic range (pH 4), and do not have an unpleasant smell and an unpleasant taste at tasteless no odor, and which are not in the former, and a manufacturing method for the same.

**0013**

**Means for Solving the Problem** An invention of the first of this invention which solves said technical problem Following a-e, a) In thing pH4 which are 100, a being [ a being / cracking severity / 8 to 15% / b nonprotein nitrogenous compound / 200-350 mg per g of casein hydrolysate ] c amino acid score heat-treats for 10 minutes at 100 \*\*, It is casein hydrolysate which has a physicochemical property of being forming-precipitate e tasteless no odor, It requires also as a desirable mode that this casein hydrolysate hydrolyzes with a proteolytic enzyme which processed casein

processed with hydrophobic resin with hydrophobic resin, and is manufactured (it is hereafter indicated as the mode 1.).

**0014**An invention of the second of this invention which solves said technical problem to casein processed with hydrophobic resin. It is a manufacturing method of casein hydrolysate adding a proteolytic enzyme processed with hydrophobic resin, hydrolyzing and filtering hydrolyzing liquid, It requires also as a desirable mode that hydrolysis is performed in 8 to 15% of cracking severity, and the range of 200-350 mg of nonprotein nitrogenous compounds per g of casein hydrolysate (it is hereafter indicated as the mode 2.).

**0015**

**Example**although this invention is explained in full detail, in order [ next, ] to make an understanding of this invention easy -- the beginning -- the invention of the second of this invention, i.e., the manufacturing method of casein hydrolysate, (it is hereafter written as the method of this invention.) -- it explains [ \*\* ].

**0016**The casein used for the method of this invention is a mixture of caseinate, such as acid casein, such as lactic acid casein separated from a commercial item or cow's milk, skim milk, etc. by the publicly known method, and chloride casein, casein sodium, and casein potassium, or these arbitrary rates. Since using unrefined casein whose protein content is 70 to 90% can manufacture the casein hydrolysate which has the character whose effect of adsorption treatment is remarkable and, which was cheaply excellent in this invention in the taste and the stinking thing ingredient by hydrophobic resin processing as compared with refining casein, it is desirable.

**0017**This raw material casein is distributed to water or warm water, and it dissolves. Although there is no restriction when the concentration of this solution is exceptional, it is usually desirable from a point of efficiency and operativity to consider it as about 5 to 15% of protein concentration.

**0018**Subsequently, it is desirable from a point of the decomposition prevention by contamination of saprophytic bacteria to carry out for [ 10 minutes ] grade heat sterilization of said casein solution at 80-85 \*\*.

**0019**As hydrophobic resin used for the method of this invention, commercial items, such as Dowex S-112 (made by the Dow Chemical Co.), XAD-7 (made by ORGANO CORP.), and KS-35 (made by a Hokuetsu carbon company), can be illustrated.

**0020**Processing with the hydrophobic resin of casein in the method of this invention, In consideration of the adsorption capacity, add the hydrophobic resin of sufficient quantity by a batch type to carry out adsorption treatment of the taste and the stinking thing ingredient to said casein solution, and the hydrophobic resin after adsorption treatment by dissociating by filtration etc., and a column formula. It can carry out by dipping said casein solution in the column filled up with hydrophobic resin in consideration of the adsorption capacity at sufficient rate of flow to carry out adsorption treatment of the taste and the stinking thing ingredient, and collecting the casein solutions after adsorption treatment in it. It is a batch type, and when KS-35 (made by a Hokuetsu carbon company) is used as hydrophobic resin, specifically, adsorption treatment of the taste and the stinking thing ingredient can be carried out by using 0.3 or more weight sections of hydrophobic resin to casein (85% of protein content) 1 weight section. the proteolytic enzyme used for the method of this invention is endoprotease -- one kind -- or two or more kinds can be used, combining.

**0021**To be used for the method of this invention as endoprotease, \*\*\*\*\*-\*\* (made by Nagase Seikagaku), a pro leather (made by the Amano Pharmaceuticals company), the protease S (made by the Amano Pharmaceuticals company) -- it rusting, \*\*\*\*\*(ing) (made by Novo Nordisk), and, GODO B.A.P (made by Godo Shusei Co., Ltd.), the protease N (made by the Amano Pharmaceuticals company). GODO B.N.P (made by Godo Shusei Co., Ltd.), newt \*\*\* (made by Novo Nordisk),

Alcalase (made by Novo Nordisk), trypsin (made by Novo Nordisk), Commercial items, such as chymotrypsin (made by Novo Nordisk), subtilisin (made by Novo Nordisk), papain (made by the Amano Pharmaceuticals company), bromelain (made by the Amano Pharmaceuticals company), and pepsin (made by the Amano Pharmaceuticals company), can be illustrated. crude proteolytic enzyme [ of the taste and the stinking animal organ origin with many thing ingredients, or the bacteria origin of a Bacillus (Bacillus) group etc. ] [-- for example, ], such as said pepsin (made by the Amano Pharmaceuticals company), \*\*\*\*\* (made by Nagase Seikagaku), and subtilisin (made by Novo Nordisk), etc. can be illustrated. Since these enzymes can manufacture the casein hydrolysate which has the character whose effect of adsorption treatment is remarkable and, which was cheaply excellent in this invention in the taste and the stinking thing ingredient by hydrophobic resin processing as compared with refining proteolytic enzymes, they are desirable.